

Catégorisation des Glioblastomes : typologie et profilage du génome

Classification of Glioblastoma and genome profiling

Marie de Tayrac¹ et Jean Mosser²

¹ INSERM U946, Variabilité Génétique et Maladies Humaines, Fondation Jean Dausset - CEPH, Paris. ² CNRS UMR 6061, Equipe Régulation Transcriptionnelle et Oncogénèse, Rennes, France.

Le diagnostic morphologique de glioblastome regroupe un ensemble de tumeurs particulièrement hétérogènes tant au plan de leur pathogénie moléculaire et cellulaire que de l'histoire clinique de la maladie. Ces tumeurs sont néanmoins caractérisées par des anomalies moléculaires récurrentes, affectant principalement les voies de transduction du signal liées aux récepteurs tyrosine-kinase (RTK) et la régulation du cycle cellulaire (Furnari *et al.*, 2007). Plus précisément, les altérations les plus fréquentes sont l'activation par amplification ou mutation du gène *EGFR*, la sur-expression de *PDGF* et de ses récepteurs, ainsi que l'inactivation, par perte ou mutation, de gènes suppresseurs de tumeur tels que *CDKN2A*, *TP53* et *PTEN*. Plus récemment, les efforts mis en place pour étudier les glioblastomes à l'échelle du génome ont identifié de nouvelles mutations et délétions fréquentes ciblant les gènes *ERBB2*, *IDH1* et *NF1* (TCGA Network, 2008, Parsons *et al.*, 2008, Yan *et al.*, 2009).

Une autre application importante des analyses en parallèle du transcriptome consiste aujourd'hui à mettre en évidence des « signatures » géniques capables de

caractériser des sous-ensembles de cancer. Ces signatures basées principalement sur des données d'expression génique ont été depuis peu étendues aux modifications structurales du génome, et plus particulièrement aux altérations du nombre de copies d'ADN et aux profils mutationnels. Les études à grande échelle appliquées en ce sens ont abouti à la découverte de nouvelles sous-classes de tumeurs, toutes préalablement rassemblées sous le même diagnostic de glioblastome.

La découverte d'entités transcriptionnelles nouvelles dans les glioblastomes a été marquée par les travaux de la compagnie *Genetech, Inc* en collaboration avec l'*UCSF* à San Francisco et le *M.D. Anderson Cancer Center* à Houston (Phillips et al., 2006). Cette étude met en évidence l'existence de trois sous-ensembles de gliomes de haut-grade, définis comme *proneuraux*, *proliférants* et *mésenchymateux*. Phillips et collaborateurs en proposent une classification moléculaire restreinte basée sur les profils d'expression de 35 gènes. L'entité des gliomes proneuraux, de « bon » pronostic, regroupe des glioblastomes exprimant une fraction importante de gènes impliqués dans le développement du système nerveux central et notamment les marqueurs *OLIG2*, *DLL3* et *BCAN*. Les entités des gliomes proliférants et mésenchymateux, de mauvais pronostic, rassemblent une majorité de glioblastomes et sont caractérisées respectivement par l'expression des marqueurs *PCNA* et *TOP2A*, et, *CHI3L1*, *CD44* et *VEGF*. Cette étude pose également l'hypothèse d'un lien entre la progression des gliomes malins et les étapes de la neurogenèse qui expliquerait l'agressivité des tumeurs de types mésenchymateux et proliférants (Figure 1). Les capacités cellulaires de croissance et de survie, liées à une activation du cycle cellulaire et à un phénomène accru de néovascularisation, seraient à l'origine du mauvais pronostic de ces tumeurs.

L'atlas du génome des glioblastomes réalisé par le consortium « The Cancer Genome Atlas » (TCGA Network, 2008) a permis d'établir une cartographie des voies de signalisation perturbées dans les glioblastomes (Figure 2). Les résultats de l'étude des différents niveaux moléculaires – nombre de copies d'ADN, séquences nucléotidiques et expression des gènes – convergent vers les voies RB, p53 et RTK/RAS/PI3K, et indiquent l'existence de différentes configurations génétiques tumorales. Ces travaux laissent également envisager de nouveaux indicateurs dans l'orientation de la prise en charge thérapeutique des patients. En effet, plusieurs stratégies thérapeutiques pourraient être établies en fonction des différentes altérations de ces trois voies de signalisation. Ainsi, les patients porteurs de délétions ou mutations de *CDKN2A/CDKN2C* ou d'amplifications de *CDK4/CDK6* pourraient bénéficier des inhibiteurs de kinases cycline-dépendantes. L'utilisation d'inhibiteurs de PI3K pourrait être considérée pour les patients porteurs d'une délétion de *PTEN* ou d'une mutation activatrice de *PIK3CA/PIK3R1*. Pour ce qui est de la voie des récepteurs tyrosine-kinase, la présence de nombreuses altérations génomiques pourrait laisser envisager, pour certains patients, des combinaisons de thérapies anti-RTK.

Les résultats du TCGA ont également permis de préciser et d'étendre la classification proposée par Phillips et collaborateurs à quatre sous-entités de glioblastomes: *proneuraux*, *neuraux*, *classiques* et *mésenchymateux* (Verhaak et al., 2010). Cette typologie des glioblastomes, basée sur l'expression de 840 gènes, intègre des données sur les modifications structurales du génome. Ainsi, les glioblastomes proneuraux, – préalablement définis par Phillips et collaborateurs comme exprimant les marqueurs *DLL3* et *OLIG2* –, sont caractérisés par une fréquence élevée

d'amplifications activatrices de *PDGFRA* en 4q12, de mutations du gène *IDH1*, et dans une moindre mesure de *TP53*. Ces tumeurs ne présentent que très rarement des altérations au niveau des chromosomes 7 et 10. Cette entité est associée à un plus jeune âge et à une survie plus longue et s'avère enrichie en glioblastomes secondaires. Les glioblastomes neuraux, entité nouvellement définie, se rapprochent de la classe HC1 identifiée par Freije et collaborateurs (Freije et al., 2004). Ils représentent un ensemble de tumeurs marquées par l'expression de nombreux gènes liés à biologie neurale tels que *NEFL*, *GABRA1*, *SYT1* et *SLC12A5*. Les glioblastomes classiques regroupent quant à eux des tumeurs présentant un gain du chromosome 7 concomitant à une perte du chromosome 10 ainsi qu'une amplification activatrice du gène *EGFR* associée à une délétion de *CDKN2A* en 9p21.3. Cette entité se distingue également des autres formes de glioblastomes par une absence de mutation de *TP53* et par une activation des voies de signalisation Notch et Sonic hedgehog. Enfin, les glioblastomes mésenchymateux, exprimant les marqueurs *CHI3LI*, *MET*, *CD44* et *MERTK*, sont caractérisés par une altération de la voie de signalisation PI3K/AKT, via des délétions et mutations fréquentes des gènes *NF1* et *PTEN*. À la différence des glioblastomes proneuraux, ces deux dernières entités de glioblastomes (classiques et mésenchymateux) répondent à une intensification du traitement par chimio-radiothérapie, avec une augmentation significative de la survie médiane des patients.

Verhaak et collaborateurs ont également confronté cette classification moléculaire aux données du transcriptome issues de l'étude de différents types de cellules du cerveau (Cahoy et al. 2008). Ils ont ainsi mis en évidence une association étroite entre la signature transcriptionnelle spécifique aux astrocytes et les glioblastomes

classiques, entre la signature caractérisant les astrocytes en culture et les glioblastomes méenchymateux, mais également entre la signature oligodendrogliale et les glioblastomes proneuraux. Ces observations suggèreraient l'existence de voies de différenciation distinctes et spécifiques à chacune des entités de glioblastomes mais également la possibilité de plusieurs précurseurs ou cellules d'origine.

De cette classification moléculaire, trois des quatre entités de glioblastomes – *proneuraux*, *classiques* et *méenchymateux* – ont été associées au niveau protéique à une perturbation des voies de signalisation centrées sur PDGF, EGFR et RAS via NF1 (Brennan et al, 2009). Les glioblastomes proneuraux montrent une surexpression des protéines TSC2 et HEB/TCF12 et du récepteur α au PDGF. Les glioblastomes classiques se distinguent quant à eux par une surexpression du récepteur à l'EGF et par une activation de la voie Notch (JAG1 et HES1). Enfin, les glioblastomes méenchymateux montrant une perte de NF1, sont associés à une activation faible des voies PI3K et MAPK et à une surexpression du marqueur CHI3L1/YKL40. Ces résultats précisent l'importance de certains marqueurs dans la définition des différentes classes de glioblastomes et suggèrent leur prise en compte pour la stratification des patients dans les études à venir.

En conclusion, le développement des techniques de génomique et l'intégration des données issues de différents niveaux moléculaires ont permis de mieux caractériser la diversité des glioblastomes et de proposer une classification moléculaire de ces tumeurs. Les études récentes convergent vers l'existence de trois ou quatre entités de glioblastomes caractérisées par des altérations génétiques ciblant différentes voies

moléculaires, le plus souvent de façon exclusive. Elles soulignent également l'importance de l'utilisation d'une telle typologie dans la prise en charge thérapeutique des patients.

Références bibliographiques

Brennan C, Momota H, Hambardzumyan D, Ozawa T, Tandon A, Pedraza A, Holland E. Glioblastoma subclasses can be defined by activity among signal transduction pathways and associated genomic alterations. *PLoS One*. 2009 Nov 13;4(11):e7752.

Cahoy JD, Emery B, Kaushal A, Foo LC, Zamanian JL, Christopherson KS, Xing Y, Lubischer JL, Krieg PA, Krupenko SA, Thompson WJ, Barres BA. A transcriptome database for astrocytes, neurons, and oligodendrocytes: a new resource for understanding brain development and function. *J Neurosci*. 2008 Jan 2;28(1):264-78.

Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature*, vol. 455, no. 7216, pages 1061–1068, Oct 2008.

Freije WA, Castro-Vargas FE, Fang Z, Horvath S, Cloughesy T, Liao LM, Mischel PS, Nelson SF. Gene expression profiling of gliomas strongly predicts survival. *Cancer Res*. 2004 Sep 15;64(18):6503-10.

Furnari FB, Fenton T, Bachoo RM, Mukasa A, Stommel JM, et al. Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment. *Genes Dev*. 2007;21:2683–2710.

Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, Mankoo P, Carter H, Siu IM, Gallia GL, Olivi A, McLendon R, Rasheed BA, Keir S, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Busam DA, Tekleab H, Diaz LA Jr, Hartigan J, Smith DR, Strausberg RL, Marie

SK, Shinjo SM, Yan H, Riggins GJ, Bigner DD, Karchin R, Papadopoulos N, Parmigiani G, Vogelstein B, Velculescu VE, Kinzler KW. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008 Sep 26;321(5897):1807-12. Epub 2008 Sep 4.

Phillips HS, Kharbanda S, Chen R, Forrest WF, Soriano RH, Wu TD, Misra A, Nigro JM, Colman H, Soroceanu L, Williams PM, Modrusan Z, Feuerstein BG, Aldape K. Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer Cell*. 2006 Mar;9(3):157-73.

Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, Wang V, Qi Y, Wilkerson MD, Miller CR, Ding L, Golub T, Mesirov JP, Alexe G, Lawrence M, O'Kelly M, Tamayo P, Weir BA, Gabriel S, Winckler W, Gupta S, Jakkula L, Feiler HS, Hodgson JG, James CD, Sarkaria JN, Brennan C, Kahn A, Spellman PT, Wilson RK, Speed TP, Gray JW, Meyerson M, Getz G, Perou CM, Hayes DN; Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell*. 2010 Jan 19;17(1):98-110.

Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med*. 2009;360:765–773.

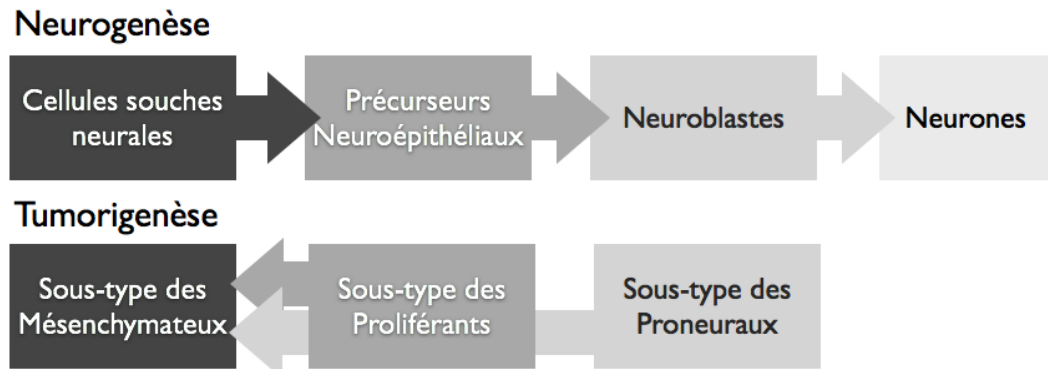


Figure 1 - Tumorigenèse et neurogenèse, une hypothèse pour la classification des glioblastomes.

Cette hypothèse fait le lien entre les étapes de la neurogenèse et la progression des gliomes malins. Elle a été proposée par Phillips et collaborateurs pour expliquer les différents sous-types de glioblastomes identifiés par analyse du transcriptome (Phillips et al., 2006).

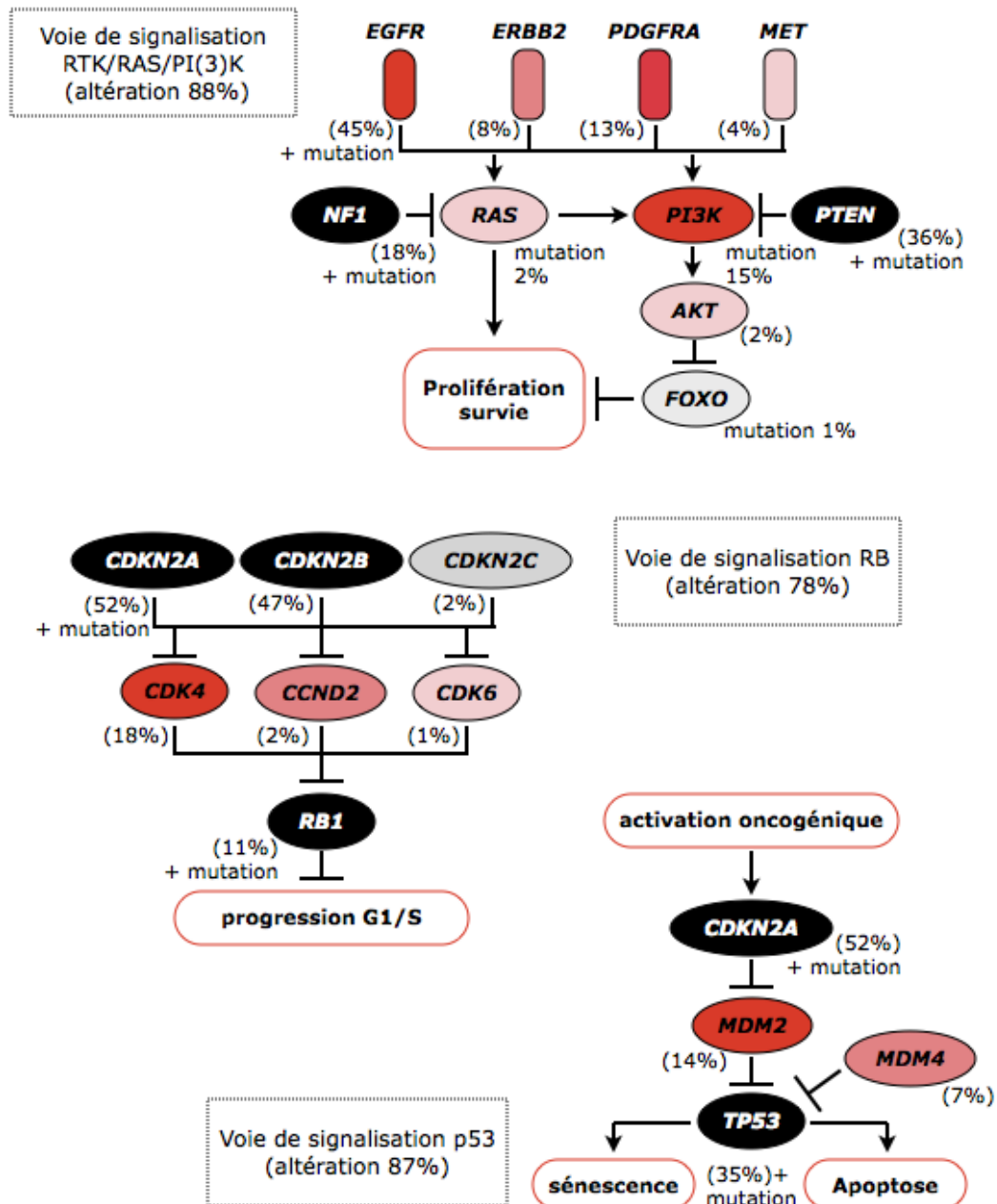


Figure 2 - Réseaux fréquemment affectés dans les glioblastomes.

Ce schéma résume les principales altérations du génome des glioblastomes soulignées par le TCGA. Cette étude du nombre de copies d'ADN et des altérations de séquences nucléotidiques révèle une cartographie de trois voies de signalisation perturbées dans les glioblastomes, il s'agit des voies RTK/RAS/PI3K, p53 and RB. Les altérations génétiques sont représentées par des niveaux de rouge pour les amplifications et des niveaux de noir pour les délétions homozygotes. Les fréquences d'altérations sont données en dessous de chacun des gènes.